

doi:10.12301/spxb202300287

文章编号:2095-6002(2024)03-0126-13

引用格式:刘莹,蒙志明,席越阳,等.产脂肪酶木糖葡萄糖球菌 YCC3 全基因组测序及序列分析[J].食品科学技术学报,2024,42(3):126-138.



LIU Ying, MENG Zhiming, XI Yueyang, et al. Whole genome sequencing and sequence analysis of lipase-producing *Staphylococcus xylosus* YCC3[J]. Journal of Food Science and Technology, 2024,42(3):126-138.

产脂肪酶木糖葡萄糖球菌 YCC3 全基因组测序及序列分析

刘莹, 蒙志明, 席越阳, 朱迎春*

(山西农业大学 食品科学与工程学院, 山西 太谷 030800)

摘要:木糖葡萄糖球菌(*Staphylococcus xylosus*, *S. xylosus*) YCC3 是从发酵肉制品中分离筛选到的 1 株产脂肪酶活性高的菌株,为研究该菌株在香肠发酵过程中的代谢机理和功能,采用 PromethION 和 Illumina HiSeq 测序平台对 *S. xylosus* YCC3 进行完成图测序分析。结果表明,*S. xylosus* YCC3 基因组为 1 套含有 3 个质粒的环状分子,基因组序列总长度为 2 773 035 bp,GC 含量(鸟嘌呤和胞嘧啶占基因组序列的比率)为 32.88%。基因组中预测到 2 540 个编码基因,编码基因总长度为 2 742 136 bp,平均长度为 1 079.58 bp,占基因组的 83.24%。*S. xylosus* YCC3 的编码基因通过 GO (Gene Ontology) 数据库注释,预测到与抗氧化活性相关的基因 3 个;COG (Cluster of Orthologous Groups of Proteins) 数据库注释到与脂质运输和代谢相关的基因中有 8 个含有脂肪酸合成基因、4 个含有脂肪水解酶基因;KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 数据库注释到与脂肪酸合成相关的基因 16 个,与脂肪酸降解相关的基因 10 个,与不饱和脂肪酸合成相关的基因 3 个。*S. xylosus* 菌株的基因组基本功能注释和代谢通路基因信息注释旨在为菌株作为发酵剂在香肠发酵中的应用提供一定的理论依据。

关键词:木糖葡萄糖球菌;脂肪酶;全基因组测序;基因功能注释;发酵香肠

中图分类号: TS251.1

文献标志码: A

发酵香肠是利用微生物发酵形成的具有典型发酵风味且耐储藏的发酵肉制品^[1],脂肪酸作为其风味前体物质,对风味的形成、积累及产品感官具有重要影响^[2];脂肪酶在发酵过程中不仅对游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)的释放起主导作用,而且可以在短时间内促进大量的风味前体物质积累,加速发酵肉制品的成熟。

发酵肉制品中的脂肪酶来自肉组织中的内源性脂肪酶和在发酵过程中微生物分泌的脂肪酶。许多研究发现,发酵肉制品中脂质分解酶主要来自微球

菌和葡萄糖球菌,接种在香肠中可促进 FFA 的产生^[3-4]。此外,菌株编码脂肪酶的基因不同,生成的脂肪酶作用机制不同。如华根霉中基因 *pro27RCL* 编码的脂肪酶对 C₆~C₈ 中链脂肪酸具有分解作用,而基因 *mRCL* 编码的脂肪酶则分解短链脂肪酸^[5]。全基因组测序技术可以将细菌 DNA 的完整基因组序列全部检测出来,便于揭示生物体的完整 DNA 组成,通过序列分析及其功能注释,能够更好地理解物种内部和物种之间的变异。根据美国国家生物技术信息中心(National Center of Biotechnology Informa-

收稿日期:2023-05-12

基金项目:山西省应用基础研究计划项目(20210302123400);山西省功能食品产业技术体系建设项目(2023CYJSTX10-03)。

Foundation: Applied Basic Research Program of Shanxi Province (20210302123400); Functional Food Industry Technology System Program of Shanxi (2023CYJSTX10-03)。

第一作者:刘莹,女,硕士研究生,研究方向为肉制品加工与质量控制。

*通信作者:朱迎春,女,教授,博士,主要从事肉制品加工与质量控制方面的研究。

tion,NCBI)数据库显示,截至2023年6月,葡萄球菌属(*Staphylococcus*)全基因组测序菌株为90 651株,其中木糖葡萄糖球菌(*Staphylococcus xylosus*)测序菌株仅有84株。目前,国内外对*S. xylosus*的研究主要集中在菌株的筛选、脂肪酸及风味物质的测定方面^[6],关于*S. xylosus*全基因组测序分析的国内外文献及研究较少,只有Kaur等^[7]注释了菌株*Staphylococcus xylosus* DMB3-Bh1的部分基因。

本课题组前期通过分离、纯化和16S rDNA鉴定从发酵肉制品中获得了12株菌属关系明确的菌株,并对其脂质降解能力和抗氧化性进行了分析^[8],同时在灭菌猪肉浆中筛选具有较强脂质水解能力和抗氧化能力的菌株^[9],结果表明木糖葡萄糖球菌(*Staphylococcus xylosus*, *S. xylosus*) YCC3发酵特性良好,产脂肪酶能力较强。本研究进一步对*S. xylosus* YCC3进行全基因测序,分析目的菌株的全基因信息,对其功能进行注释,预测脂肪酶编码基因,阐明脂肪酶的特性并对其代谢途径进行分析,以期对*S. xylosus* YCC3在发酵香肠中的应用提供理论依据和数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

木糖葡萄糖球菌 YCC3,山西农业大学食品科学与工程学院畜产团队前期从发酵肉制品中分离、筛选并经过16S rDNA鉴定所得;蛋白胨,上海生工生物工程股份有限公司;牛肉浸膏,北京奥博星生物技术有限公司;氯化钠,天津市科密欧化学试剂有限公司;琼脂粉、营养肉汤培养基,北京索莱宝科技有限公司;DNA抽提试剂盒(细菌)Wizard® Genomic DNA Purification Kit,德国 Qiagen 公司。

1.2 仪器与设备

LDZX-50KBS型立式高压蒸汽灭菌锅,上海申安医疗器械厂;HPP-9272型电热恒温培养箱,北京东联哈尔仪器制造有限公司;SW-CJ-2FD型双人单面超净化工作台,苏州净化设备有限公司;ST2100型pH计,CP114型电子天平,美国奥豪斯仪器有限公司;5804R型高速冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 菌株活化

将甘油管中的*S. xylosus* YCC3接种于营养琼脂培养基进行活化,37℃恒温培养72h,之后挑取单

菌落于营养肉汤培养基中传代培养2次(37℃,48h),镜检无杂菌后方可使用。

1.3.2 测序样品制备

取*S. xylosus* YCC3发酵液在4℃下5 000 r/min离心15 min得到菌体沉淀,用生理盐水洗涤2次,迅速储存于-80℃的超低温冰箱,之后送至武汉希望组生物科技有限公司进行测序。

1.3.3 测序样品质量检测及评估

菌株DNA的提取、质量检测及评估均在武汉希望组生物科技有限公司进行。采用以下4种方法检测DNA是否合格:1)样品的外观性状是否含有异物;2)质量分数0.75%琼脂糖凝胶脉冲电泳检测样品是否有降解以及DNA片段大小是否合格;3)NanoDrop检测DNA纯度是否合格, $OD_{260}/OD_{280} = 1.8 \sim 2.0$, $OD_{260}/OD_{230} = 2.0 \sim 2.2$ 为合格;4)通过Qubit荧光仪定量的浓度判断样品的纯度是否合格。

1.3.4 样品的全基因组测序

用Qiagen试剂盒提取高质量的DNA,构建文库,利用Oxford Nanopore Technology测序仪PromethION平台对DNA进行单分子测序,获得原始测序数据。数据质控标准为序列质量值大于等于7以及序列长度大于等于1 000 bp。基因组组装参考文献^[10]。比对基因组软件为minimap2^[11],统计测序深度软件为samtools^[12]。预测编码基因软件为prodial^[13],保留完整编码序列(coding sequence, CDS);基因组结构注释参考文献^[14]。提取基因组编码蛋白后,用blastp比对编码蛋白到KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)^[15]和COG(Cluster of Orthologous Groups of proteins)^[16]数据库,保留coverage大于30%的作为注释结果。

1.4 数据处理

将注释结果生成gff3格式的注释文件,同时用tbl2asn将注释信息和基因组信息转换为gb格式文件以及能直接上传NCBI的sqn格式文件。用脚本对基因组测序深度、GC分布、GC-skew以及基因组结构进行分析并用可视化软件Circos绘制核基因组圈图,其他图形由Origin 2022绘制。

2 结果与分析

2.1 基因组组装与预测结果

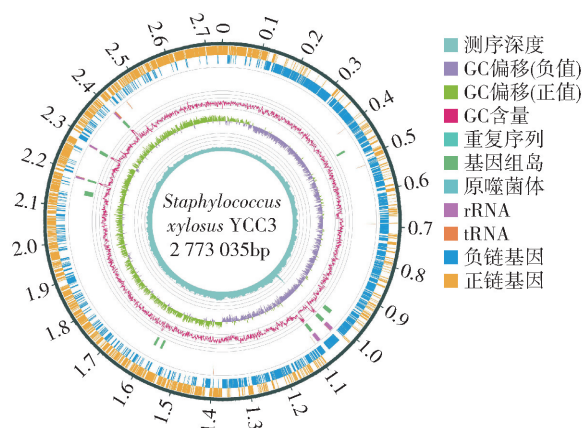
采用PromethION和Illumina HiSeq测序平台,对*S. xylosus* YCC3进行完成图测序,测序及预测结

果表明:*S. xylosus* YCC3 染色体基因组为环状分子,染色体总数为 1,基因组序列总长度为 2 773 035 bp;平均 GC 含量(鸟嘌呤和胞嘧啶所占的比率)为 32.88%;blastn 对比软件发现有 3 个质粒基因。GC 含量是菌株核酸序列组成的重要特征,其含量可作为反映进化的一种指标。*S. xylosus* YCC3 的 GC 含量较高,说明该菌株可能不受菌龄和突变因素以外的其他因素的影响,或许可作为一种发酵剂稳定地应用至发酵食品中,且具有良好的发酵性能。对 *S. xylosus* YCC3 的编码基因进行预测,获得编码基因(CDS 数)2 540 个,编码基因总长度为 2 742 136 bp,平均长度为 1 079.58 bp,占基因组的 83.24%,编码基因 GC 含量为 32.91%,基因间区长度为 175 788 bp,基因间区 GC 含量为 30.13%,基因间区占基因百分比为 6.41%。*S. xylosus* YCC3 基因组上未预测到重复序列(CRISPR)和原噬菌体(prophage),预测到基因组岛(genomic island)共有 10 个,其原始测序数据已提交至 NCBI SRA 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>),登录号为 SRR25203860。

S. xylosus YCC3 基因组中含有 59 个 tRNA 基因,分别转运甘氨酸(Gly)、亮氨酸(Leu)、精氨酸(Arg)等 20 种不同的氨基酸,其中转运 Gly 的基因数最多,为 6 个,转运半胱氨酸(Cys)和色氨酸(Trp)的基因最少仅有 1 个。不同种类的氨基酸在发酵香肠中呈现出不同的风味口感,甘氨酸会给产品带来甜味,半胱氨酸是苦味氨基酸,但适当的苦味会提高产品的复合呈味性,协调产品的口感。有研究表明发酵剂的加入会加速菌体自身脂肪酶和/或蛋白酶的分解,从而促进发酵肉制品独特风味的形成^[17]。

2.2 基因组圈图分析

通过 Circos 软件绘制的基因组圈图见图 1。基因组圈图可以全面展示基因组的特征。基因组圈图最外面一圈为基因组大小的标识,*S. xylosus* YCC3 基因组为 1 套含有 3 个质粒的环状分子。第 2 圈和第 3 圈分别为正链、负链上的 CDS,总共得到 2 540 个完整的 CDS。第 3 圈为正负链上的 tRNA(橙色)、rRNA(紫色),YCC3 细菌基因组中含有 22 个 rRNA 操纵子,分别由 8 个 5S rRNA、7 个 16S rRNA、7 个 23S rRNA 组成,含有 59 个 tRNA 基因,分别转运 Gly、Leu、Arg、Ser 等 20 种不同的氨基酸。第 4 圈为基因组岛,是一类具有特定结构和功能的大片段



由外到内依次为编码基因(正义链),编码基因(负义链),tRNA(橙色)和 rRNA(紫色),重复序列、原噬菌体和基因组岛,GC 含量,GC 偏移(+/-),测序深度。

图 1 *S. xylosus* YCC3 的基因组圈图

Fig. 1 Circle representation of genome of *S. xylosus* YCC3

DNA 的总称,常与水平基因转移相关^[18],共有 10 个。第 5 圈为 GC 含量,向外的部分表示该区域 GC 含量高于全基因组平均 GC 含量,峰值越高表示与平均 GC 含量差值越大,向内的部分表示该区域 GC 含量低于全基因组平均 GC 含量,峰值越高表示与平均 GC 含量差值越大。第 6 圈和第 7 圈为 GC-skew 值,具体算法为 $(G - C)/(G + C)$,在生物意义上该值为正值时(第 6 圈,绿色),正链更倾向于转录 CDS;为负值时(第 7 圈,紫色)负链更倾向于转录 CDS。第 8 圈为测序深度,可判断组装结果的完整性和测序的均一性。最内一圈为基因组大小标识。基因组圈图可以使研究者对菌株基因组的特征有更全面、更直观的认识。当菌株应用于发酵食品时,基因组圈图可以帮助深入理解菌株与发酵产物间的相互作用。

2.3 基因组功能注释结果

通过与 GO、COG 和 KEGG 数据库比对,对预测得到的编码基因进行基础的功能注释。*S. xylosus* YCC3 基因组中能够注释到 GO 数据库的基因数目为 1 646 个,能够注释到 COG 数据库的基因数目为 2 119 个,与 KEGG 数据库比对能够定位到具体 Pathway 的基因数目有 1 527 个。

2.3.1 GO 注释结果

根据对比结果,采用 Interproscan 软件,参数设置为 SMART-iprlookup-goterm-s-t p-f TSV,在数据库中对 *S. xylosus* YCC3 进行 GO 注释,结果见图 2。*S. xylosus* YCC3 基因组中含分子功能、生物过程、细

胞组成 3 大类型,在 GO 分类中共有 1 646 个基因得到了功能注释,占有编码基因数量(2 540 个)的 64. 80%。其中,与细胞组成相关的基因 551 个,与

生物过程相关的基因 1 337 个,与分子功能相关的基因 1 443 个。1 646 个基因共注释了代谢过程的 29 种功能特性。

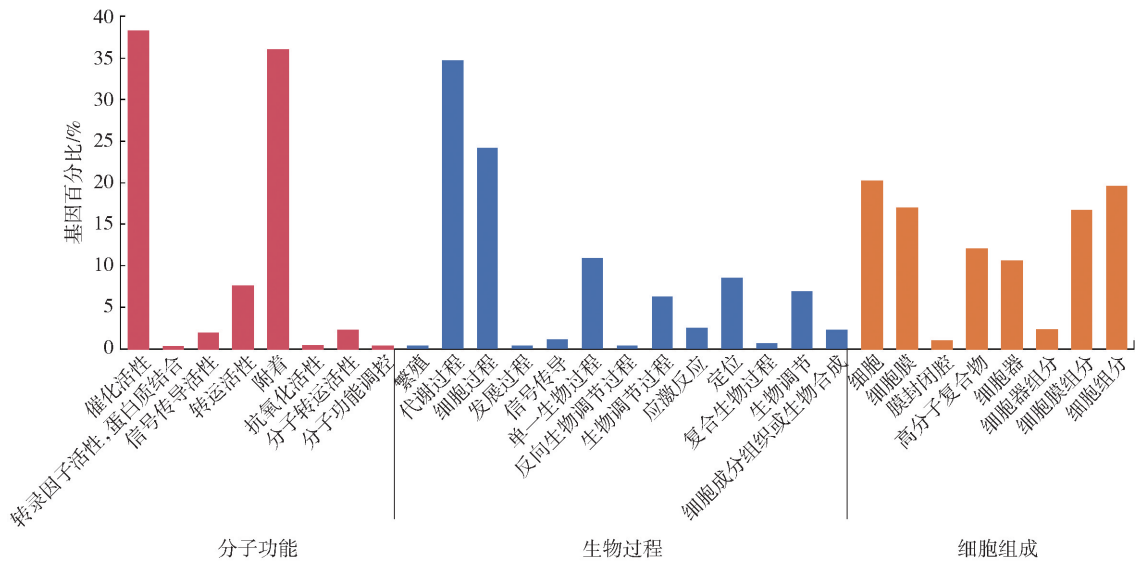


图 2 *S. xylosus* YCC3 的 GO 功能分类
Fig. 2 GO functional classification of *S. xylosus* YCC3

在生物过程这一层面分别得到代谢过程、细胞过程和单一生物过程等 13 种功能注释,其中和代谢相关的基因数量最多,显示出该菌代谢的活跃性;在细胞组成层面得到 8 种功能注释,其中与细胞、细胞组分相关的基因最多,表明 *S. xylosus* YCC3 细胞自身的复杂性;在分子功能层面共得到 8 种功能注释,其中与催化活性有关的基因占主导地位,表明其在结合、转运、催化上都有较强的能力;与抗氧化活性相关的基因共有 3 个,即 gene01110 (*AhpC*)、gene01250 (*AhpC*) 和 gene02226 (*Bcp*),均为过氧化氢酶。*AhpC* 编码基因在腾冲嗜热厌氧杆菌 (*Thermoanaerobacter tengcongensis*) 基因 (tte0270) 上也得到注释^[19]。田建军等^[20]完成了 1 株瑞士乳杆菌 TR13 的全基因组测序,注释到 7 个与抗氧化活性相关酶的基因,但是并没有注释到过氧化氢酶基因。本课题组前期测定了木糖葡萄糖球菌 (*Staphylococcus xylosus*) YSZ11、YCC3,腐生葡萄糖球菌 (*Staphylococcus saprophyticus*) YCC2,巨球菌 (*Macrococcus caseolyticus*) YZC2、YZC3 这 5 株菌株的抗氧化能力,结果表明 *S. xylosus* YCC3 的 DPPH 自由基清除率 (74. 96%)、羟自由基清除率 (50. 17%)、超氧阴离子清除率 (51. 79%) 以及总还原力值均最高,其抗氧化能力显著高于 *S. xylosus* YSZ11 及其他菌株^[9],*S. xylosus* YCC3 呈现的高抗氧化活性可能与菌株中

具有编码基因 *AhpC* 与 *Bcp* 紧密相关。

2. 3. 2 COG 注释结果

采用 blastp 对比软件,参数设置为-evalue 1e-05 -outfmt '6 std qlen slen stitle'-max_target_seqs 5,在数据库 eggNOG ([http:// www. ncbi. nlm. nih. gov/ COG/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/COG/)) 中对 *S. xylosus* YCC3 进行 COG 注释,结果见图 3。由图 3 可知,*S. xylosus* YCC3 编码基因在 COG 中的类型数量为 23,编码基因组中共有 2 119 个基因在 COG 数据库中得到了注释,注释基因占比为 83. 43%。其中氨基酸运输和代谢、翻译核糖体结构和生物合成、碳水化合物转运代谢 3 种类型的相关基因注释较多,分别是 227、219、205 个,脂质转运与代谢相关基因的注释量为 128。

表 1 为脂质转运与代谢相关的基因。由表 1 可知,*S. xylosus*YCC3 中含有 8 个与合成脂肪酸相关的编码基因,其中 gene00299 (*FabD*)、gene00497 (*FabI*)、gene00519(*FabB*)、gene02085(*FabA*)、gene00520(*FabH*) 为 5 种不同酰基载体蛋白酶的编码基因,gene00297 (*AcpP*)、gene02506(*AccB*)、gene00300(*PlsX*) 为 3 种酰基载体蛋白质基因。gene00297 与 *L. helveticus* TR13 中的 gene0931 和 gene2286 注释到相同结果^[20],除此以外 *L. helveticus* TR13 并未注释到其他酰基载体蛋白质基因。除 gene00297 以外,这些基因均在 KEGG 数据库中有生物学通路信息注释。

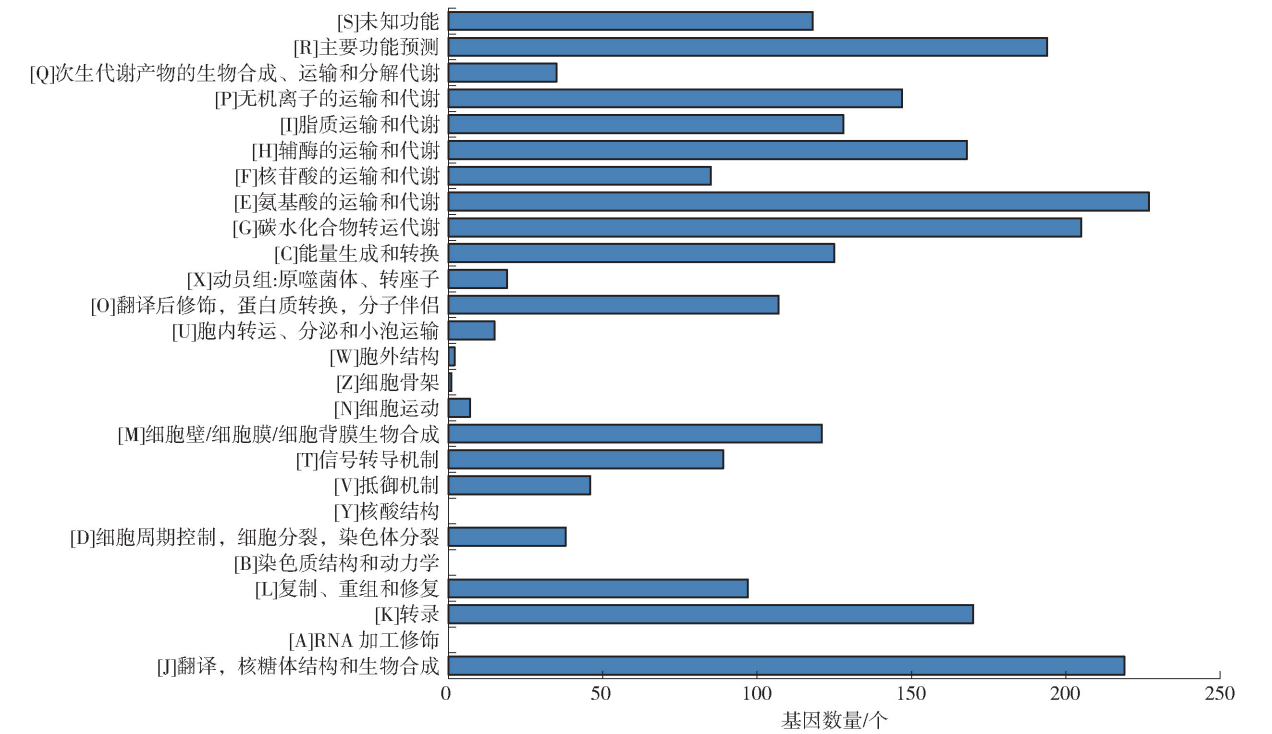


图 3 *S. xylosus* YCC3 的 COG 注释

Fig. 3 COG annotation of *S. xylosus* YCC3

表 1 脂质转运与代谢相关基因

Tab. 1 Lipid transport and metabolism related genes

序号	基因编号	基因名称	基因功能描述	COG 号
1	gene00076	<i>DegV</i>	脂肪酸结合蛋白 <i>DegV</i>	COG1307
2	gene00176 *	<i>PlsY</i>	磷脂生物合成蛋白 <i>PlsY</i> , 可能是甘油-3-磷酸酰基转移酶	COG0344
3	gene00216	<i>BtuE</i>	硫氧还蛋白/谷胱甘肽过氧化物酶 <i>BtuE</i> , 降低脂质过氧化物	COG0386
4	gene00243 *	<i>PgsA</i>	磷脂酰甘油磷酸合酶	COG0558
5	gene00267 *	<i>CdsA</i>	CDP-甘油二酯合成酶	COG0575
6	gene00268	<i>UppS</i>	十一碳烯基焦磷酸合酶	COG0020
7	gene00299 *	<i>FabD</i>	丙二酰辅酶 A-酰基载体蛋白转酰化酶	COG0331
8	gene00300 *	<i>PlsX</i>	酰基-ACP:磷酸酰基转移酶(脂肪酸/磷脂生物合成)	COG0416
9	gene00398	<i>CyoE</i>	聚戊二烯基转移酶(血红素氧合酶)	COG0109
10	gene00497 *	<i>FabI</i>	烯酰基-[酰基载体蛋白] 还原酶 <i>FabI</i>	COG0623
11	gene00519 *	<i>FabB</i>	3-氧代酰基-(酰基载体蛋白) 合酶	COG0304
12	gene00737	<i>UppP</i>	十一碳烯基焦磷酸磷酸酶	COG1968
13	gene00822	<i>MVD1</i>	甲羟戊酸焦磷酸脱羧酶	COG3407
14	gene00886	<i>DesA</i>	脂肪酸去饱和酶	COG3239
15	gene00922 *	<i>AtoA</i>	酰基辅酶 A: 乙酸酯/3-酮酸辅酶 A 转移酶, β 亚基	COG2057
16	gene00923 *	<i>AtoD</i>	酰基辅酶 A: 乙酸酯/3-酮酸辅酶 A 转移酶, α 亚基	COG1788
17	gene01001	<i>IspE</i>	4-二磷酸-2C-甲基-D-赤藓糖醇激酶	COG1947
18	gene01171	<i>CaiB</i>	巴豆酰辅酶 A: 肉碱 CoA 转移酶 <i>CaiB</i> 及相关酰基 CoA 转移酶	COG1804
19	gene01181	<i>MaoC</i>	酰基辅酶 A 脱水酶 <i>PaaZ</i>	COG2030
20	gene01212 *	<i>CaiD</i>	烯酰辅酶 A 水合酶/肉碱消旋酶	COG1024
21	gene01215	<i>YdiF</i>	酰基辅酶 A: 乙酸酯/3-酮酸辅酶 A 转移酶	COG4670

续表 1

序号	基因编号	基因名称	基因功能描述	COG 号
22	gene01330	<i>DltE</i>	参与茶酸 D-丙氨酸酯化的短链脱氢酶	COG3967
23	gene01502	<i>BetA</i>	胆碱脱氢酶或相关黄素蛋白	COG2303
24	gene01537	<i>TesB</i>	酰基辅酶 A 硫代酯化酶	COG1946
25	gene01619 *	<i>PksG</i>	3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 合成酶	COG3425
26	gene01745	<i>FadB</i>	3-羟基酰基辅酶 A 脱氢酶	COG1250
27	gene01852	<i>LldD</i>	依赖 FMN 的脱氢酶,包括 L-乳酸脱氢酶和Ⅱ型异戊烯基二磷酸异构酶	COG1304
28	gene02085 *	<i>FabA</i>	3-羟基肉豆蔻酰/3-羟基癸酰-(酰基载体蛋白)脱水酶	COG0764
29	gene02106	<i>AcpS</i>	磷酸泛酰转移酶(全能 ACP 合成酶)	COG0736
30	gene02184	<i>PcrB</i>	甘油-1-磷酸七异戊烯基转移酶	COG1646
31	gene02386 *	<i>PlsC</i>	1-酰基-sn-甘油-3-磷酸酰化转移酶	COG0204
32	gene02416 *	<i>AccD</i>	乙酰辅酶 A 羧化酶 β 亚基	COG0777
33	gene02417 *	<i>AccA</i>	乙酰辅酶 A 羧化酶 α 亚基	COG0825
34	gene02452	<i>SqhC</i>	萜烯环化酶 SqhC	COG1657
35	gene02539	<i>DgkA</i>	二酰甘油激酶	COG0818
36	gene02582 *	<i>PccA</i>	乙酰/丙酰辅酶 A 羧化酶 α 亚基	COG4770
37	gene00084	<i>PgpB</i>	膜相关的磷脂磷酸酶	COG0671
38	gene00178	<i>FadM</i>	酰基辅酶 A 硫代酯酶 <i>FadM</i>	COG0824
39	gene00219	<i>PldB</i>	溶血磷脂酶, α - β 水解酶超家族	COG2267
40	gene00246 *	<i>FabG</i>	NAD(P) 依赖性脱氢酶,短链醇脱氢酶家族	COG1028
41	gene00520 *	<i>FabH</i>	3-氧代酰基-[酰基载体蛋白]合成酶Ⅲ	COG0332
42	gene00393 *	<i>UgpQ</i>	甘油磷酸二酯磷酸酯酶	COG0584
43	gene00297	<i>AcpP</i>	酰基载体蛋白	COG0236
44	gene00566	<i>MenE/FadK</i>	O-琥珀酰基苯甲酸辅酶 A 连接酶 <i>MenE</i> 或相关的酰基辅酶 A 合成酶(形成 AMP)	COG0318
45	gene00695	<i>LCB5</i>	磷脂酰甘油激酶、二酰甘油激酶家族	COG1597
46	gene00715	<i>GtrA</i>	推定翻转酶 <i>GtrA</i> (菌落素连接葡萄糖的跨膜转运酶)	COG2246
47	gene00766	<i>Aes</i>	乙酰酯酶/脂肪酶	COG0657
48	gene00781	<i>TagB</i>	CDP-甘油磷酸酯转移酶,TagB/SpsB 家族	COG1887
49	gene00821	<i>ERG12</i>	戊二烯酸激酶	COG1577
50	gene00880	<i>MmsB</i>	3-羟基异丁酸脱氢酶或相关的 β -羟基酸脱氢酶	COG2084
51	gene00884	<i>YndB</i>	查尔酮/黄酮结合蛋白 YndB, AHS1/START/SRPBCC 结构域	COG3832
52	gene01160	<i>AdhE</i>	酰基辅酶 A 还原酶或其他 NAD 依赖的醛脱氢酶	COG1012
53	gene01042 *	<i>EstA</i>	三酰甘油酯酶/脂肪酶, α / β 水解酶	COG1075
54	gene00839 *	<i>PaaJ</i>	乙酰辅酶 A 乙酰转移酶	COG0183
55	gene01176	<i>Acs</i>	酰基辅酶 A 合成酶/AMP-(脂肪)酸连接酶	COG0365
56	gene01213 *	<i>CaiA</i>	酰基辅酶 A 脱氢酶与烷基化反应蛋白 AidB 相关	COG1960
57	gene01229	<i>YciA</i>	酰基辅酶 A 水解酶	COG1607
58	gene02053	<i>AccC</i>	生物素羧化酶	COG0439
59	gene01237	<i>IspD</i>	2-C-甲基-D-赤藓糖醇-4-磷酸胞苷转移酶	COG1211
60	gene02506 *	<i>AccB</i>	生物素羧化载体蛋白	COG0511

* 表示该基因在 KEGG 数据库中有生物学通路信息注释。

由表 1 可知, gene00178 (*FadM*)、gene00393 (*UgpQ*)、gene00766 (*Aes*) 分别为 3 种不同酯酶的编码基因, gene01042 (*EstA*) 为三酰甘油脂肪酶基因, 酯酶与脂肪酶均属于脂肪水解酶, 均具有分解脂肪的作用。将 4 种脂肪水解酶的 COG 号在 eggNOG 数据库中进行对比, 发现在葡萄球菌属的金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 与表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*) 中也有注释, 但并未在该数据库中发现与木糖葡萄球菌相关的基因注释, 这表明 *FadM*、*UgpQ*、*Aes* 和 *EstA* 均为 *S. xylosus* YCC3 所特有的脂肪酶编码基因。菌株所特有的脂肪酶编码基因可以有效催化甘油三酯在脂质-水界面水解成脂肪酸和甘油, 并且能催化酯化、酯交换、醇解和酸解等其他反应。若将菌株添加至发酵食品中, 或许可改善发酵产品的品质与风味, 可为今后发酵肉制品风味的改良提供潜在的发酵剂。虽然在田建军等^[20]报道的瑞士乳杆菌 TR13 中也发现了编码酯酶与脂肪酶的基因, 但与 *S. xylosus* YCC3 的脂肪酶基因并不相同, 这表明不同种属的菌株编码的脂肪酶

基因有所差异。前期实验将 *S. xylosus* YSZ11、*S. xylosus* YCC3 分别接种到灭菌猪肉浆进行发酵, 结果发现发酵第 2 天, *S. xylosus* YCC3 组中磷脂酶活性 (1.654 U/g) 和中性脂肪酶活性 (0.225 U/g) 显著高于 *S. xylosus* YSZ11 组的磷脂酶活性 (1.397 U/g) 和中性脂肪酶活性 (0.212 U/g); 发酵第 4 天时, *S. xylosus* YCC3 组的游离脂肪酸特别是不饱和脂肪酸的质量比 (55.98 mg/100 mg) 显著高于 YSZ11 组 (54.68 mg/100 mg) ($P < 0.05$)^[9], 这极有可能是因为脂肪水解酶编码基因 *FadM*、*UgpQ*、*Aes* 和 *EstA* 的存在, 使 *S. xylosus* YCC3 更具有促进脂质水解的能力。

2.3.3 KEGG 注释结果

S. xylosus YCC3 在 KEGG 数据库中共有 1 527 个基因分别在代谢、遗传信息处理、环境信息处理、细胞过程、生物体系统、人类疾病 6 大功能 39 个通路上得到功能注释, 结果如图 4。样本中涉及的代谢通路总数以及参与每个代谢通路的基因, 经分析发现在代谢途径层面特别是碳水化合物代谢、氨基

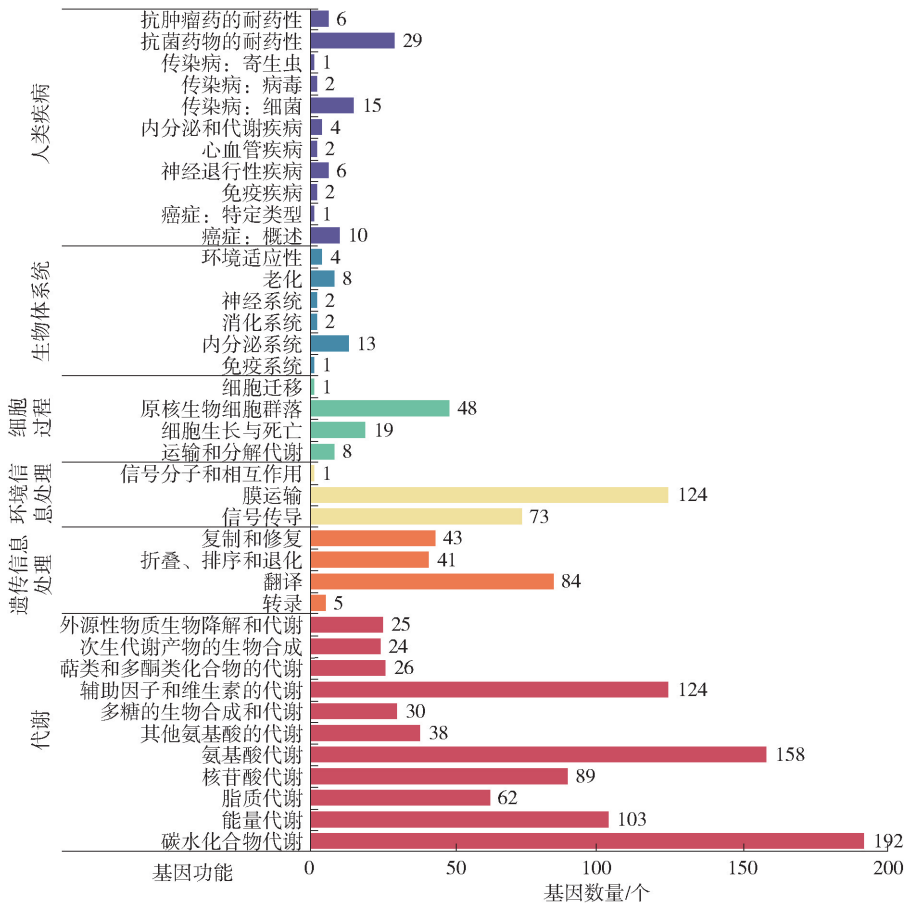


图 4 *S. xylosus* YCC3 的 KEGG 功能分类

Fig. 4 KEGG functional classification of *S. xylosus* YCC3

酸代谢和辅助因子及维生素代谢通路得到较多的功能注释。其中 600 个基因在 11 个代谢通路上得到注释,占 KEGG 通路中全部注释基因数量的 39.29%。与碳水化合物代谢通路相关的基因为 192 个,占代谢通路注释基因数量的 32.00%;与脂质代谢通路相关的基因有 62 个;195 个基因在环境信息处理层面得到注释,其中与膜运输有关的基因为 124 个,与信号传导有关的基因 73 个。

表 2 为脂类代谢通路及其相关基因。由表 2 可知,*S. xylosus* YCC3 基因组中主要包含了脂肪酸合成、脂肪酸降解、不饱和脂肪酸合成、初级胆汁酸生物合成、次生胆汁酸生物合成、酮体的合成与降解、甘油酯类代谢、甘油磷脂代谢、鞘脂类代谢共 9 条脂质代谢通路信息。其中脂肪酸的降解、脂肪酸合成和不饱和脂肪酸合成 3 条通路的详细信息见表 3。

表 2 脂类代谢通路及其相关基因
Tab. 2 Lipid metabolism pathways and its related genes

序号	通路编号	功能描述	基因编号
1	ko00564	甘油磷脂代谢	gene01461、gene00779、gene00036、gene02095、gene01491、gene00393、gene00538、gene00243、gene00220、gene00300、gene02386、gene02392、gene00267、gene00176、gene02192
2	ko00561	甘油酯类代谢	gene01822、gene00222、gene00703、gene01795、gene01042、gene01823、gene00769、gene02170、gene00300、gene00771、gene00677、gene01156、gene00176、gene02062、gene00770、gene00491、gene01481、gene02386、gene01331、gene01173、gene02192
3	ko00061	脂肪酸的合成	gene02507、gene02506、gene00298、gene00497、gene00299、gene02085、gene02582、gene00290、gene00520、gene01214、gene02416、gene02417、gene00246、gene00519、gene02581、gene01049
4	ko01040	不饱和脂肪酸的合成	gene00290、gene00246、gene00298
5	ko00071	脂肪酸的降解	gene00839、gene01213、gene01211、gene01212、gene02170、gene02599、gene01214、gene01620、gene01173、gene02062
6	ko00072	酮体的合成与降解	gene00921、gene00839、gene00922、gene01619、gene00923、gene01620
7	ko00600	鞘脂类代谢	gene01372、gene01156
8	ko00120	初级胆汁酸生物合成	gene01436
9	ko00121	次级胆汁酸生物合成	gene01436

由表 3 可知,ko00061 为脂肪酸合成代谢通路,共注释到 16 个基因,其中 gene00299、gene00497、gene00519、gene02085、gene00520 为酰基载体蛋白酶基因; gene02507、gene02506、gene02582、gene02416、gene02417 和 gene02581 均为乙酰辅酶 A 羧化酶,乙酰辅酶 A 羧化酶是 1 个多亚基复合物,由生物素羧基载体蛋白、生物素羧化酶、羧基载体蛋白 α 和羧基载体蛋白 β 组成,可催化乙酰辅酶 A 并转化为丙二酰辅酶 A,是脂肪酸生物合成第一步反应的关键酶和限速酶。脂肪酸合成是所有生命体必需的基础代谢途径之一,有研究表明,Torella 等^[21]利用大肠杆菌通过改造脂肪酸合成途径中相应的酰基载体蛋白使碳链延伸,从而提升中链脂肪酸的含量。食品行业中,可以在糖果、饼干、含有动物脂肪的食品中使用中链甘油三酯,以降低食品的热值,从而控制肥胖等疾病^[22],因此 YCC3 可用于发酵食品中,发挥降低发酵食品脂质的潜力。

ko01040 为不饱和脂肪酸的生物合成代谢通

路,*S. xylosus* YCC3 基因组中包含了 gene00246、gene00290 和 gene00298,均为酰基载体蛋白还原酶基因(*fabG*),这与瑞士乳杆菌 TR13 中的 gene1746 和 gene2284[酰基载体蛋白还原酶基因(*fabG*)]注释结果一致^[20]。本团队前期的研究表明,用植物乳杆菌 *Lactobacillus plantarum* MSZ2 和 *S. xylosus* YCC3 复合接种(比例为 1:1)制作发酵香肠,采用二代高通量测序技术对不同成熟时期的细菌菌群进行代谢功能预测,发现脂质代谢活动中的脂肪酸生物合成在成熟过程占据绝对优势,相对丰度从成熟第 0 天的 102 396 增长至成熟第 12 天的 127 105,优势菌相对丰度与功能代谢的相关性表明葡萄球菌与脂质代谢相关性系数为 0.67,而乳酸杆菌与脂质代谢丰度呈负相关,相关性系数为 -0.56,说明接种的 *L. plantarum* MSZ2 不具有脂质水解能力,因此在脂肪酸生物合成这一脂质代谢途径中发挥主要作用的是 *S. xylosus* YCC3,这与菌本身含有的多个酰基载体蛋白(酶)编码基因密不可分。

表 3 脂肪酸生物合成与降解通路信息
Tab. 3 Information about fatty acid biosynthesis and degradation pathways

序号	代谢通路	基因编号	Ko 编号	Ko 名称	Ko 功能描述
1	ko00061 脂肪酸的合成	gene02507	K01961	<i>accC</i>	乙酰辅酶 A 羧化酶、生物素羧化酶亚基 [EC:6. 4. 1. 2 6. 3. 4. 14]
2		gene02506	K02160	<i>accB, bccP</i>	乙酰辅酶 A 羧化酶生物素羧基载体蛋白
3		gene00298	K00059	3-oxoacyl-[<i>acyl-carrier protein</i>] <i>reductase</i>	3-氧代酰基-[酰基载体蛋白] 还原酶 [EC:1. 1. 1. 100]
4		gene00497	K00208	<i>fabI</i>	烯酰基-[酰基载体蛋白] 还原酶 I [EC:1. 3. 1. 9 1. 3. 1. 10]
5		gene00299	K00645	<i>fabD</i>	[酰基载体蛋白] S-丙二酰转移酶 [EC:2. 3. 1. 39]
6		gene02085	K02372	<i>fabZ</i>	3-羟基酰基-[酰基载体蛋白] [EC:4. 2. 1. 59]
7		gene02582	K01961	<i>accC</i>	乙酰辅酶 A 羧化酶、生物素羧化酶亚基 [EC:6. 4. 1. 2 6. 3. 4. 14]
8		gene00290	K00059	3-oxoacyl-[<i>acyl-carrier protein</i>] <i>reductase</i>	3-氧代酰基-[酰基载体蛋白] 还原酶 [EC:1. 1. 1. 100]
9		gene00520	K00648	<i>fabH</i>	3-氧代酰基-[酰基载体蛋白] 合酶 III [EC:2. 3. 1. 180]
10		gene01214	K01897	<i>ACSL, fadD</i>	长链酰基辅酶 A 合成酶 [EC:6. 2. 1. 3]
11		gene02416	K01963	<i>accD</i>	乙酰辅酶 A 羧化酶羧基转移酶 β 亚基 [EC:6. 4. 1. 2 2. 1. 3. 15]
12		gene02417	K01962	<i>accA</i>	乙酰辅酶 A 羧化酶羧基转移酶 α 亚基 [EC:6. 4. 1. 2 2. 1. 3. 15]
13		gene00246	K00059	<i>fabG</i>	3-氧代酰基-[酰基载体蛋白] 还原酶 [EC:1. 1. 1. 100]
14		gene00519	K09458	<i>fabF</i>	3-氧代酰基-[酰基载体蛋白] 合酶 II [EC:2. 3. 1. 179]
15		gene02581	K02160	<i>accB, bccP</i>	乙酰辅酶 A 羧化酶生物素羧基载体蛋白
16		gene01049	K00648	<i>fabH</i>	3-氧代酰基-[酰基载体蛋白] 合酶 III [EC:2. 3. 1. 180]
17	ko00071 脂肪酸的降解	gene00839	K00626	<i>ACAT, atoB</i>	乙酰辅酶 A C-乙酰转移酶 [EC:2. 3. 1. 9]
18		gene01213	K00252	<i>GCDH, gcdH</i>	戊二酰辅酶 A 脱氢 [EC:1. 3. 8. 6]
19		gene01211	K00632	<i>fadA, fadI</i>	乙酰辅酶 A 酰基转移酶 [EC:2. 3. 1. 16]
20		gene01212	K07516	<i>fadN</i>	3-羟基酰辅酶 A 脱氢酶 [EC:1. 1. 1. 35]
21		gene02170	K00128	<i>ALDH</i>	醛脱氢酶(NAD ⁺) [EC:1. 2. 1. 3]
22		gene02599	K00121	<i>frmA, ADH5, adhC</i>	S-(羟甲基) 谷胱甘肽脱氢酶/醇脱氢酶 [EC:1. 1. 1. 284 1. 1. 1. 1]

续表 3					
序号	代谢通路	基因编号	Ko 编号	Ko 名称	Ko 功能描述
23	不饱和脂肪酸的合成	gene01214	K01897	<i>ACSL, fadD</i>	长链酰基辅酶 A 合成酶 [EC:6.2.1.3]
24		gene01620	K00626	<i>ACAT, atoB</i>	乙酰辅酶 A C-乙酰转移酶 [EC:2.3.1.9]
25		gene01173	K00128	<i>ALDH</i>	醛脱氢酶(NAD ⁺) [EC:1.2.1.3]
26		gene02062	K00128	<i>ALDH</i>	醛脱氢酶(NAD ⁺) [EC:1.2.1.3]
27		gene00290	K00059	<i>fabG</i>	3-氧代酰基-[酰基载体蛋白] 还原酶 [EC:1.1.1.100]
28		gene00246	K00059	<i>fabG</i>	3-氧代酰基-[酰基载体蛋白] 还原酶 [EC:1.1.1.100]
29		gene00298	K00059	<i>fabG</i>	3-氧代酰基-[酰基载体蛋白] 还原酶 [EC:1.1.1.100]

ko00071 为脂肪酸分解代谢通路, *S. xylosus* YCC3 基因组中包含了 10 个与其相关的基因, 其中 gene00839 和 gene01620 为胆固醇酰基转移酶编码基因(*ACAT*), 对维持细胞内胆固醇稳态有重要作用; gene01211 为乙酰 CoA 酰基转移酶编码基因, 该酶属于酰基辅酶 A 代谢酶超家族中的硫解酶家族, 通过催化 β -氧化途径的最后一步参与脂肪酸的延伸和降解^[23], 该基因在脂肪酸代谢中发挥着重要作用。脂肪酸由脂肪酶分解脂质而产生, 进而通过分解代谢通路产生醇、醛、酸和烷烃等挥发性风味物质^[24], 其中游离不饱和脂肪酸在自由基存在下极易被氧化形成氢过氧化物, 随后迅速分解形成不饱和醛; 游离饱和脂肪酸则通过 β -氧化途径降解为 β -酮酸, β -酮酸由葡萄糖菌脱羧反应产生甲基酮^[25], 这有助于发酵香肠风味的形成。本课题组将 *S. xylosus* YCC3 作为风味菌接种到香肠中, 研究对发酵香肠风味形成的影响^[25], 结果显示在成熟过程中共检测出 63 种挥发性物质, 其中包含 25 种醛类、8 种酮类、12 种醇类、10 种酯类和 8 种酸类物质。结合 COG 注释结果, 这可能是因为 *S. xylosus* YCC3 特有的脂肪酶基因 *FadM*、*UgpQ*、*Aes* 和 *EstA* 起到了重要作用, 脂质被水解生成了游离脂肪酸, 游离脂肪酸(特别是不饱和脂肪酸) 可能在 *ACAT* 编码基因的催化下又进一步反应生成了酸、醛、酮、酯等物质, 赋予发酵香肠产品独特的风味, 改善了发酵香肠的口感。

2.3.4 耐药基因与毒力基因预测结果

利用软件 abricate, 通过 CARD 数据库([card.mcmaster.ca/ \) 和 VFDB 核心数据库\(<http://www.mgc.ac.cn/VFs/main.htm> \) 注释, 获得每个基因组中包含的抗生素抗性基因和毒力因子基因的注释情况, 统计结果见表 4。](https://</p></div><div data-bbox=)

表 4 CARD 和 VFDB 数据库注释结果

Tab. 4 Results of CARD and VFDB database annotation					
CARD 名称	注释基因	注释数量/个	VFDB 名称	注释基因	注释数量/个
<i>arlR</i>	gene00085	1	<i>clpP</i>	gene00650	1
<i>norA</i>	gene00725	1	<i>lip</i>	gene01042	1
<i>mgrA</i>	gene00734	1			
<i>fusD</i>	gene00871	1			
<i>fexA</i>	gene02459	1			
<i>lnuA</i>	gene02619	1			
合计		6	合计		2

抗生素在有害微生物的防治中发挥着重要作用, 然而, 随着抗生素的大量滥用, 微生物通过基因的水平转移或自身的基因变异会对抗生素产生耐受性或抗药性。CARD 数据库收集了超过 1 600 个已知的耐药基因, 包含了不同环境来源(如肠道、生活废水、河流) 的细菌抗药性基因及其抗性谱、作用机制、本体论、COG 和 CDD 等注释信息。 *S. xylosus* YCC3 基因组共预测到了 *arlR*、*norA*、*mgrA* 等 6 个不同的耐药基因, 分别是响应调节因子基因、外排泵产生抗药性基因、夫西地酸抗性基因、氯霉素输出剂基因、核苷酸转移酶基因, 其中 *arlR* 基因在植物乳杆

菌 R9 中也得到注释^[26],表明 *S. xylosus* YCC3 具有一定的安全性。

来源于微生物并对微生物自身侵染和引起特定宿主疾病具有促进作用的物质称为毒力因子,主要包括细菌毒素、调节细菌黏附作用的细胞表面蛋白、对细菌本身具有保护作用的蛋白质、细胞表面碳水化合物以及具有细菌致病性的水解酶等。*S. xylosus* YCC3 有对 ATP 依赖性 Clp 蛋白酶蛋白水解亚基(*clpP*)和三酰基甘油脂肪酶前体(*lip*)的 2 种毒力因子。*lip* 基因编码三酰甘油脂肪酶,KEGG 通路编号为 K01046,主要参与脂质代谢中的三酰甘油合成(triacylglycerol biosynthesis, M00089)和酰基甘油降解(acylglycerol degradation, M00098)。因此,*lip* 基因可能对于发酵肉制品的脂质代谢起到抵抗作用。

2.3.5 PHI 注释结果

PHI 数据库从文献中收集了经过实验验证的致病基因和效应基因的序列,可以判断菌株是否具有安全性,是否能够将其应用到发酵食品中。使用 blastp 对比软件,参数设置为 -evalue 1e-05 -outfmt '6 std qlen slen stitle' -max_target_seqs 5,通过 PHI 数据库注释,*S. xylosus* YCC3 共有 452 个致病基因,在导致病原菌致病能力增强、导致病原菌致病能力减弱、对病原菌致病性没有影响、导致病原菌致病能力丧失、致死、感药、抗药、致病效应 8 大类上得到功能注释。其中导致病原菌致病能力减弱的基因最多,占总致病基因数量的 58.81%;其次为对病原菌致病性没有影响的基因(24.50%),感药基因和抗药基因占比最小,均为 0.31%,这表明 *S. xylosus* YCC3 具有一定安全性。因此,*S. xylosus* YCC3 可以作为一种食品发酵剂应用到肉制品中。有研究将木糖葡萄糖球菌做为发酵剂应用到腊肉中,提升了产品的品质和安全性^[17]。

3 结 论

本研究采用 PromethION 和 Illumina HiSeq 测序平台对 *S. xylosus* YCC3 进行完成图测序。结果表明,*S. xylosus* YCC3 基因组为 1 套含有 3 个质粒的环状分子,总长度为 2 773 035 bp。GC 含量为 32.88%,预测到 2 540 个编码基因,占基因组序列的 83.24%。编码基因通过 GO、COG、KEGG、CARD、VFDB、PHI 等数据库的对比分析,完成了 *S. xylosus* YCC3 基因组基本功能注释和代谢通路基

因信息注释。*S. xylosus* YCC3 基因组中能够注释到 GO 数据库的基因数量为 1 646 个,占有所有编码基因数量(2 540 个)的 64.80%,其中有 3 个与抗氧化活性相关的基因;能够注释到 COG 信息的基因数目为 2 119 个,在脂质的运输与代谢方面含有 8 种脂肪酸合成编码基因和 4 种脂肪水解酶编码基因;在 KEGG 数据库中共有 1 527 个基因在 39 个通路上得到功能注释,占有所有编码基因数量(2 540 个)的 60.12%,脂质代谢的通路信息分析显示,*S. xylosus* YCC3 基因组中与脂肪酸合成通路(ko0061)相关的基因共有 16 个,脂肪酸生物降解通路(ko00071)相关的基因有 10 个,不饱和脂肪酸的生物合成代谢通路(ko01040)相关的基因有 3 个;在 CARD 数据库和 VFDB 数据库中预测到可能的毒力基因 2 个、耐药基因 6 个;在 PHI 数据库中筛选出 452 个致病基因。对基因功能注释信息的研究旨在为菌株的应用提供一定理论依据。

参考文献:

- [1] KUMAR P, CHATLI M K, VERMA A K, et al. Quality, functionality, and shelf life of fermented meat and meat products: a review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2017, 57(13): 2844–2856.
- [2] OJHA K S, KERRY J P, DUFFY G, et al. Technological advances for enhancing quality and safety of fermented meat products[J]. Trends in Food Science & Technology, 2015, 44(1): 105–116.
- [3] NAVARRO J L, NADAL M I, IZQUIERDO L, et al. Lipolysis in dry cured sausages as affected by processing conditions[J]. Meat Science, 1997, 45(2): 161–168.
- [4] CHEN Q, KONG B H, HAN Q, et al. The role of bacterial fermentation in lipolysis and lipid oxidation in Harbin dry sausages and its flavour development[J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 77: 389–396.
- [5] 韦伟, 冯凤琴. sn-1, 3 位专一性脂肪酶在食品中的应用[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(2): 122–128.
WEI W, FENG F Q. Application of sn-1, 3 specific lipase in food[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2012, 27(2): 122–128.
- [6] HU Y Y, CHEN Q, WEN R X, et al. Quality characteristics and flavor profile of Harbin dry sausages inoculated with lactic acid bacteria and *Staphylococcus xylosus*[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 114: 108392.

- [7] KAUR G, ARORA A, SATHYABAMA S, et al. Genome sequencing, assembly, annotation and analysis of *Staphylococcus xylosus* strain DMB3-Bh1 reveals genes responsible for pathogenicity[J]. Gut Pathogens, 2016, 8(1): 1–9.
- [8] 王吉, 张鑫, 胡静荣, 等. 产脂肪酶菌株筛选及其抗氧化性的研究[J]. 中国粮油学报, 2022, 37(8): 174–182.
- WANG J, ZHANG X, HU J R, et al. Screening of lipase producing strains and their antioxidant activity[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2022, 37(8): 174–182.
- [9] 王吉, 张鑫, 胡静荣, 等. 灭菌猪肉浆中发酵菌株脂质水解和氧化能力分析[J]. 中国农业科学, 2022, 55(9): 1846–1858.
- WANG J, ZHANG X, HU J R, et al. Analysis of lipolysis and oxidation ability of fermentation strains in sterilized pork pulp[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2022, 55(9): 1846–1858.
- [10] WICK R R, JUDD L M, GORRIE C L, et al. Unicycler: resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads[J]. PLoS Computational Biology, 2017, 13(6): e1005595.
- [11] LI H. Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences[J]. Bioinformatics, 2018, 34(18): 3094–3100.
- [12] LI H, HANDSAKER B, WYSOKER A, et al. The sequence alignment/map format and SAMtools[J]. Bioinformatics, 2009, 25(16): 2078–2079.
- [13] HYATT D, CHEN G L, LOCASCIO P F, et al. Prodigal: prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification[J]. BMC Bioinformatics, 2010, 11: 119.
- [14] DA SILVA FILHO A C, RAITTZ R T, GUIZELINI D, et al. Comparative analysis of genomic island prediction tools[J]. Frontiers in genetics, 2018, 9: 619.
- [15] KANEHISA M, GOTO S, SATO Y, et al. Data, information, knowledge and principle: back to metabolism in KEGG[J]. Nucleic Acids Research, 2014, 42(d1): 199–205.
- [16] GALPERIN M Y, MAKAROVA K S, WOLF Y I, et al. Expanded microbial genome coverage and improved protein family annotation in the COG database[J]. Nucleic Acids Research, 2015, 43: 261–269.
- [17] 张鹏, 赵金山, 臧金红, 等. 发酵肉制品中的特征风味与微生物之间的关系研究进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(2): 380–391.
- ZHANG P, ZHAO J S, ZANG J H, et al. Research progress on the relationship between characteristic flavor and microorganisms in fermented meat products[J]. Food Industry Science and Technology, 2024, 45(2): 380–391.
- [18] GOR M C, GOLNESHIN A, VAN T T H, et al. Cloning and functional expression of a food-grade circular bacteriocin, plantacyclin B21AG, in probiotic *Lactobacillus plantarum* WCFS1[J]. PLoS One, 2020, 15(8): e0232806.
- [19] 郑航辉, 高昇, 杨宇泽, 等. 腾冲嗜热厌氧杆菌 *ahpC* 编码基因的克隆表达及生物信息学分析[J]. 生物学杂志, 2019, 36(5): 36–40.
- ZHENG H H, GAO S, YANG Y Z, et al. Cloning, expression and bioinformatics analysis of *ahpC* gene of *Thermoanaerobacter tengcongensis*[J]. Journal of Biology, 2019, 36(5): 36–40.
- [20] 田建军. 传统发酵肉制品中微生物多样性、功能乳酸菌代谢产物及基因序列分析[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019: 117–120.
- TIAN J J. Analysis of microbial diversity, metabolites and gene sequence of functional lactobacillus in traditional fermented meat products[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2019: 117–120.
- [21] TORELLA J P, FORD T J, KIM S N, et al. Tailored fatty acid synthesis via dynamic control of fatty acid elongation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(28): 11290–11295.
- [22] JADHAV H B, ANNAPURE U S. Triglycerides of medium-chain fatty acids: a concise review[J]. Journal of Food Science and Technology, 2022(1): 1–10.
- [23] ZHANG Y N, WANG Y J, WANG X Y, et al. Acetyl-coenzyme A acyltransferase 2 promote the differentiation of sheep precursor adipocytes into adipocytes[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2019, 120(5): 8021–8031.
- [24] 葛芮瑄, 罗玉龙, 剧柠. 传统发酵肉制品中微生物菌群对风味形成的研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2295–2307.
- GE R X, LUO Y L, JU N. Research progress on the microbial flora affecting flavor formation of traditional fermented meat products[J]. Microbiology China,

2022, 49(6): 2295 – 2307.

[25] WANG J, HOU J N, ZHANG X, et al. Improving the flavor of fermented sausage by increasing its bacterial quality via inoculation with *Lactobacillus plantarum* MSZ2 and *Staphylococcus xylosus* YCC3 [J]. Foods, 2022, 11(5): 736.

[26] 尹春媚. 母乳源乳酸菌的筛选、鉴定及其益生特性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2020.

YIN C M. Screening, Identification and probiotics of lactic acid bacteria derived from breast milk [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2020.

Whole Genome Sequencing and Sequence Analysis of Lipase-Producing *Staphylococcus xylosus* YCC3

LIU Ying, MENG Zhiming, XI Yueyang, ZHU Yingchun*

(School of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taigu 030800, China)

Abstract: *Staphylococcus xylosus* (*S. xylosus*) YCC3, with high lipase-producing activity was isolated from fermented meat products. For a better understanding of metabolic mechanism and function of *S. xylosus* YCC3 during sausages fermentation, the whole genome of the strain was sequenced using the PromethION and Illumina HiSeq sequencing platform. The results showed that the genome of *S. xylosus* YCC3 was a set of circular molecules containing 3 plasmids, and the total length of the genome sequence was 2 773 035 bp with a GC content (the ratio of guanine to cytosine) of 32.88%. The genome was predicted to contain 2 540 protein-coding genes with a total length of 2 742 136 bp, and an average length was 1 079.58 bp, accounting for 83.24% of the genome. The coding genes of *S. xylosus* YCC3 were annotated by the GO (Gene Ontology) database, and 3 genes related to antioxidant activity were predicted. Related to lipid transport and metabolism in the COG (Cluster of Orthologous Groups of Proteins) database, there were 8 fatty acids synthesis genes and 4 lipohydrolase genes. 16 fatty acid synthesis genes, 10 fatty acid degradation genes and 3 unsaturated fatty acid synthesis genes were predicted from the KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) database. Moreover, functional annotation of the genome and metabolic pathway information annotation of *S. xylosus* YCC3 could provide a theoretical basis for the application of strain *S. xylous* YCC3 as a starter in sausage fermentation.

Keywords: *Staphylococcus xylosus*; lipase; whole genome sequencing; gene function annotation; fermented sausages

(责任编辑:张逸群)